

Controlo da Qualidade: Validação de Métodos em Análise Química

Relatório de Estágio

Lúcia Maria Magalhães Neves

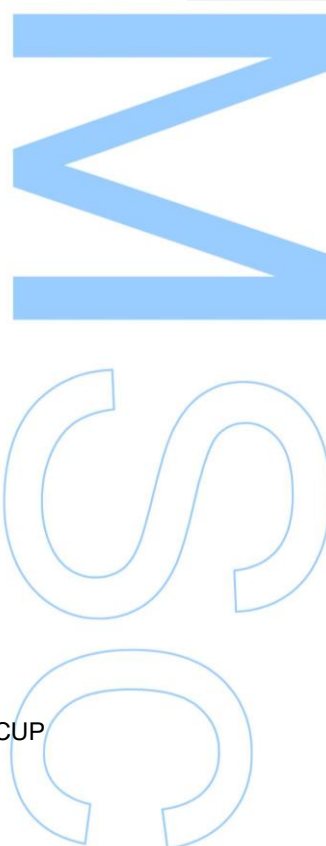
Mestrado em Tecnologia e Ciência Alimentar
Departamento de Química e Bioquímica
2017

Orientador

Nuno Filipe da Cruz Baptista Mateus, Professor Associado, FCUP

Coorientador

Eng^a Alice Santos, *Silliker* Portugal S.A.





Universidade do Minho
Escola de Engenharia



Todas as correções determinadas
pelo júri, e só essas, foram efetuadas.

O Presidente do Júri,

Porto, ____/____/____

M

S

C

Agradecimentos

Depois de 9 meses de estágio tenho que agradecer a muita gente que tornou este projeto possível.

Agradeço à *Silliker Portugal S.A.* por me ter dado a possibilidade de estagiar no seu laboratório, onde aprendi e evolui muito, não só profissionalmente mas também pessoalmente.

Aos meus orientadores, Professor Nuno Mateus, que sempre me orientou da melhor forma possível.

A todos os colaboradores do laboratório que me ensinaram tudo para que o meu estágio fosse o mais produtivo possível.

Às minhas colegas estagiárias pelo apoio que me deram e pela evolução conjunta que conseguimos.

Aos meus colegas de trabalho que me ajudaram a lidar com algumas dificuldades que surgiram tendo muita paciência comigo.

Aos meus amigos e à minha família que sempre estiveram por perto para me apoiarem neste percurso.

Ao meu companheiro Sérgio por todo o apoio, dedicação e força de vontade demonstrada.

E em especial aos meus pais porque sem eles não tinha conseguido atingir os meus objetivos.

O meu muito obrigado!

Resumo

A *Silliker* Portugal, S.A. é uma empresa independente de prestação de serviços para o sector agroalimentar, líder mundial na prestação de serviços para a melhoria da qualidade e segurança alimentar. A *Silliker* dedica-se a ajudar as empresas encontrar soluções para os desafios atuais do sector, oferecendo uma ampla gama de serviços, onde se inclui o serviço de análises microbiológicas, químicas e sensorial; consultadoria em segurança alimentar e desenvolvimento; auditorias; rotulagem e legislação.

A atualização permanente de procedimentos na procura de uma melhoria contínua é um dos objetivos da empresa. Para responder a um dos desafios colocados à *Silliker*, surgiu este trabalho, que consistiu em evidenciar a validação do método analítico de determinação de cloretos por potenciometria, de acordo com a metodologia definida no procedimento da empresa.

A metodologia para a validação deste método consistiu na análise de amostras pelo laboratório de Físico- Química da *Silliker* Portugal, na análise de cartas de controlo da plataforma ZETA SAFE e na participação em circuitos de comparação interlaboratorial. Neste método, a amostra é dispersada em meio ácido, sob agitação, de modo a libertar os cloretos solúveis e a suspensão é titulada por potenciometria com AgNO_3 . Foi utilizada uma grande variedade de matrizes alimentares na qual se estudaram os limites de repetibilidade e de precisão intermédia para as várias gamas de cloretos. A exatidão foi demonstrada com base nos resultados obtidos nos ensaios de comparação interlaboratorial. Por fim, determinou-se o limite de quantificação por validação experimental e a incerteza do método.

Palavras-chave: cloretos, qualidade alimentar, segurança alimentar, melhoria contínua.

Abstract

Today it is necessary to create increasingly healthy living habits that contribute to the well-being of the population. Adopting measures and practices in a regular and disciplined manner may reduce the risk of certain diseases, such as obesity, cardiovascular diseases, hypertension, diabetes, some types of cancer and many others. It is also important to emphasize that a healthy diet gives health and increases the average life expectancy.

In Portugal, in recent years, the food habits of the population have been changing significantly. Homemade meals made with fresh produce give way to the so-called "fast food culture". On the other hand, consumers are becoming increasingly demanding and constantly alert to the state of food. The labeling of a product, in addition to the advertising function, has been the subject of specific legislation in order to provide simple and clear information corresponding to the composition, quality, quantity, validity or other characteristics of the product. This information should be accessible to any type of public, with more or less training and any social stratum. The quality and safety of the products should be based on the assurance that all ingredients, packaging materials and production processes are suitable for the production of safe, healthy and tasty products. Silliker Portugal, S.A. is an independent company providing services to the agri-food sector, the world leader in providing services to improve quality and food safety. Silliker is dedicated to helping companies find solutions to today's industry challenges by offering a wide range of services including microbiological, chemical and sensory analysis services; food security and development consultancy; audits; labeling and legislation.

The permanent updating of procedures in search of continuous improvement is one of the company's objectives. In order to respond to one of the challenges posed to Silliker, this work was presented, which consisted in evidencing the validation of the analytical method of determination of chlorides by potentiometry, according to the methodology defined in the company procedure.

The methodology for the validation of this method consisted of the analysis of samples by the Laboratory of Physical Chemistry of Silliker Portugal, the analysis of control charts of the ZETA SAFE platform and the participation in circuits of interlaboratorial comparison. In this method, the sample is dispersed in acidic medium

under stirring to release the soluble chlorides and the suspension is titrated by potentiometry with AgNO_3 . A wide variety of food matrices were used in which the limits of repeatability and intermediate accuracy for the various ranges of chlorides were studied. Accuracy was demonstrated based on the results obtained from the interlaboratory comparison tests. Finally, the limit of quantification by experimental validation and the uncertainty of the method were determined.

Índice

Resumo	III
Abstract	V
Índice	VIII
Índice tabelas.....	IX
1. Indústria Alimentar	2
1.1 Enquadramento do trabalho	2
1.2 A Empresa	4
1.3 Validação de Métodos em Análise Química.....	8
1.3.1 Especificidade e Seletividade	9
1.3.2. Curva de Calibração	9
1.3.3 Sensibilidade	9
1.3.4 Limiares analíticos	10
1.3.5 Precisão e exatidão	10
1.3.5.1. Avaliação direta.....	11
2.1 Aparelhos e material	14
2.2 Reagentes	15
2.3 Preparação de amostras	15
IV. Considerações Finais	33
4. Considerações finais.....	34
V. Bibliografia.....	36
5. Bibliografia	37
VI. Anexos	39
Anexo 1 – Apresentação da validação do método estudado.....	41

Índice tabelas

Tabela 1 – Estudo da exatidão (por matriz).....	20
Tabela 2	23
Tabela 3 – Avaliação do teste C de Cochran para o estudo da repetibilidade.	23
Tabela 4 – Resultados obtidos para os limites de repetibilidade com base na gama de concentrações estudadas.	24
Tabela 5 – Resultados obtidos para a precisão intermédia da determinação do teor de cloretos para as amostras na gama de concentrações < 0,1.	24
Tabela 6- Resultados obtidos para a precisão intermédia da determinação do teor de cloretos para as amostras na gama de concentrações <1.	25
Tabela 7 - Resultados obtidos para a precisão intermédia da determinação do teor de cloretos para as amostras na gama de concentrações >1.	27
Tabela 8 – Resultados obtidos para a precisão intermédia da determinação do cloretos para as amostras na gama de concentrações >50.	29
Tabela 9 – Resumo de resultados de precisão intermédia para as gamas de concentrações analisadas.	30
Tabela 10 - A apresentação dos resultados analíticos da incerteza do método da determinação de cloretos	30
Tabela 11 – Gama de trabalho da determinação de cloretos por potenciometria.	31
Tabela 12 – Apresentação dos resultados para a determinação de cloretos por potenciometria na gama de concentrações estudadas.....	31

I. Introdução Teórica

1. Indústria Alimentar

1.1 Enquadramento do trabalho

A segurança alimentar é, atualmente, um dos principais problemas de saúde pública, uma vez que os alimentos que consumimos têm diferentes e diversas fontes de contaminação, que tanto podem resultar da matéria-prima como do seu processamento. Quando os alimentos contêm bactérias, vírus, parasitas ou substâncias químicas nocivas podem causar doenças como diarreias ou mesmo cancros.

Por ano ocorrem cerca de 2 milhões de mortes provocadas por água para consumo ou alimentos contaminados e, para 2050, prevê-se que a situação ficará mais crítica.

Tanto a preocupação com a alimentação como a necessidade de assegurar a qualidade mínima nos alimentos que ingerimos tornam a qualidade e a segurança alimentar tão importantes, numa tentativa de garantir que os alimentos ingeridos são inócuos e estão aptos para consumo (*Codex Alimentarius*). Antes do seu lançamento para o mercado é preciso garantir que os produtos alimentares estão de acordo com as especificações e com os regulamentos de segurança. Para lançar um produto alimentar no mercado internacional são necessários resultados de testes laboratoriais (Wallin, 1996). Estas regras acarretaram a necessidade da uniformização dos critérios de avaliação de competências dos testes laboratoriais, fazendo assim com que os laboratórios que realizam as análises a alimentos necessitem implementar um sistema de qualidade adequado (Wallin, 1996).

As análises aos alimentos são, por isso, necessárias e têm que ser as mais rigorosas e fiáveis possíveis. Dentro do vasto leque de análises que se podem realizar a um alimento encontram-se a análise nutricional e a identificação e quantificação de aditivos e de contaminantes (Consultado em: <http://www.merieuxnutrisciences.pt/pt/por/servicos/seguranca-e-qualidade-alimentar/os-nossos-servicos>).

Para que os resultados gerados pelas análises efetuadas possam ser utilizados têm que ter a qualidade adequada ao uso pretendido. Segundo o *National Institute of Standards and Technology* (NIST) “*no data is better than bad data*”, ou seja, as análises efetuadas devem produzir resultados que satisfaçam os clientes assim como o seu propósito.

Controlo da Qualidade Alimentar: Validação de Métodos em Análise Química

Se uma análise química gerar resultados incorretos, isso pode acarretar enormes custos. Um exemplo: no caso dos medicamentos, se estes contiverem impurezas e não forem detetadas, quando são lançados para o mercado, isso vai afetar negativamente a saúde da população. No caso de alimentos é necessário que a determinação qualitativa ou quantitativa de contaminantes prejudiciais para os seres vivos seja realizada corretamente, uma vez que resultados incorretos podem ser altamente perigosos para os consumidores (*Huber, 2007*).

1.2 A Empresa

A Silliker iniciou a sua atividade em Julho de 1992, no lugar da Rechousa, no concelho de Vila Nova de Gaia com a designação EGI – Sociedade de Engenharia e Gestão da Qualidade, Lda., tendo como objetivo dar resposta às necessidades do mercado. Numa altura em que a prevenção da qualidade e segurança alimentar se acentuava e que a oferta de serviços de análises e assessoria escasseava, a EGI assumiu rapidamente a posição de líder nacional nesses setores.

Integra desde 1993 o Sistema Português da Qualidade através da acreditação do laboratório (certificado de acreditação número L0087).

Como resultado do reconhecimento da importância da avaliação organolética na caracterização de produtos de consumo, em 2000 é criado o laboratório de análise sensorial. Em Março de 2005, como consequência do forte crescimento da empresa, existiu a necessidade de novas instalações, estruturadas numa perspetiva de desenvolvimento futuro, projetadas de raiz para albergar todos os serviços da empresa.

Em 2005, a empresa passou a situar-se na freguesia de Canelas (figura 1), onde construiu novas instalações.



Figura 1 - Instalações Silliker

Controlo da Qualidade Alimentar: Validação de Métodos em Análise Química

A multinacional norte-americana Silliker adquiriu, em Março de 2008, 86% do capital da empresa, dando origem à Silliker Portugal S.A.. A antiga EGI passou a integrar um dos maiores grupos mundiais na prestação de serviços na área da qualidade e segurança alimentar.

De forma a ajudar os clientes a estabelecerem o período de validade para os diferentes produtos que comercializam, em 2009 lançou o serviço de Estudos de Vida Útil.

Em Novembro de 2010 obteve a acreditação dos primeiros 8 ensaios de águas de consumo humano (4 ensaios microbiológicos e 4 ensaios físico-químicos), integrados na oferta de serviços analíticos na área ambiental.

Em 2011 a multinacional norte-americana Silliker adquiriu mais 10% do capital da empresa.

Em Janeiro de 2012, também na área ambiental, obteve a acreditação das colheitas das amostras de águas para consumo humano e em mais dois ensaios físico-químicos. Nesse mesmo ano alargou o âmbito da acreditação para análises veterinárias, com a pesquisa de *Salmonella* em amostras de material fecal e ambientais provenientes da produção primária.

Em 2013 alargou os seus serviços introduzindo o serviço de análises aos materiais de embalagem que entram em contacto direto com os géneros alimentícios oferecendo, assim, a oportunidade de avaliação de todos os aspetos dos produtos, desde o design e fabrico até à utilização final e eliminação.

A Silliker Portugal S.A. é um dos muitos laboratórios acreditados do Instituto *Mérieux NutriSciences*, focados na segurança e qualidade alimentar. O grupo *Mérieux NutriSciences* está presente em 18 países através de uma rede de mais de 70 laboratórios acreditados segundo a ISO/IEC 17025 e conta com mais de 5.000 colaboradores (Consultado em: <http://www.merieuxnutrisciences.pt/pt/por/Silliker/sobre-a-Silliker/Silliker-Portugal>).

Os mais de 45 anos de experiência do grupo fazem com que os valores como integridade, excelência, responsabilidade e iniciativa estejam bem enraizados (Consultado em: <http://www.merieuxnutrisciences.pt/pt/por/grupo/historia>).

A equipa da Silliker Portugal S.A. é constituída por especialistas de diversas áreas do setor agroalimentar. A competência da equipa, a adequação dos métodos e o sistema de melhoria contínua são alguns dos fatores que garantem a qualidade dos serviços prestados (Consultado em: <http://www.merieuxnutrisciences.pt/pt/por/compromisso/qualidade>). Todo o trabalho realizado na empresa tem como objetivo final a satisfação das exigências do cliente, tendo sido estabelecidas

Controlo da Qualidade Alimentar: Validação de Métodos em Análise Química

políticas e procedimentos de trabalho que visam assegurar a qualidade do serviço prestado ao cliente (Consultado em: <http://www.merieuxnutrisciences.pt/pt/por/compromisso/qualidade>).

A Silliker Portugal S.A. está integrada no Sistema Português da Qualidade desde 1993, através da acreditação do seu laboratório (Certificado nº L0087), e mantém um firme compromisso com a qualidade e com a identificação das necessidades dos seus clientes (Consultado em: <http://www.merieuxnutrisciences.pt/pt/por/Silliker/sobre-a-Silliker> /sobre-a-Silliker /acreditacao-e-reconhecimentos). A empresa está empenhada em garantir que os ensaios realizados são efetuados de acordo com os requisitos dos clientes e segundo o referencial normativo, Norma Portuguesa, NP EN ISO/IEC 17025 (Consultado em: <http://www.merieuxnutrisciences.pt/pt/por/Silliker/sobre-a-Silliker/Silliker-portugal>).

A empresa tem uma política de controlo da qualidade bem instituída, respeitando todas as especificações da NP EN ISO/IEC 17025. Tem implementado um sistema de qualidade apropriado ao tipo, gama e volume de trabalho que executa e os elementos deste sistema de qualidade estão documentados no Manual da Qualidade (MQ) que se encontra disponível a todo o pessoal do laboratório.

A Silliker oferece aos seus clientes uma variada gama de serviços, como o serviço de análises microbiológico, químico e sensorial e a consultadoria. Para a realização das análises físico-químicas tem duas unidades independentes, o laboratório de físico-química, onde se realizam os ensaios de química clássica e o laboratório de métodos instrumentais de análise, onde são executadas ensaios que recorrem a técnicas espectrofotométricas e cromatográficas. As análises no laboratório de química clássica permitem, entre outros:

- ✓ Determinar e controlar os parâmetros nutricionais dos alimentos;
- ✓ Controlar a presença de alergénios;
- ✓ Verificar e controlar organismos geneticamente modificados (OGM);
- ✓ Determinar/quantificar contaminantes.

Todos os colaboradores da Silliker têm consciência da sua importância nas tarefas que realizam e da importância que essas tarefas têm no resultado final. Existe, desse modo, um esforço diário para manter a qualidade pretendida, tendo sempre como meta a melhoria contínua. Atualmente a Silliker Portugal tem cerca de 160 ensaios acreditados pelo IPAC (Consultado em: <http://www.merieuxnutrisciences.pt/pt/por/Silliker/sobre-a-Silliker/Silliker-Portugal>).

Controlo da Qualidade Alimentar: Validação de Métodos em Análise Química

A Siliker Portugal S.A. é uma empresa independente de prestação de serviços para o setor agroalimentar. Fundada em 1993, integra desde 2008 o grupo *Silliker*, líder mundial na prestação de serviços para a melhoria da qualidade e segurança alimentar. Disponibiliza o seu conhecimento e experiência em vários projetos e estudos. Prima por garantir a qualidade dos serviços baseando-se na competência da equipa, na adequação dos métodos e na atualização constante dos procedimentos e equipamentos e no seu sistema de melhoria contínua.

1.3 Validação de Métodos em Análise Química

A validação de métodos em análise química é fundamental para garantir o controlo da qualidade das análises e para a acreditação do laboratório. A validação de métodos analíticos é considerada como o desenvolvimento ou adaptações de um método analítico ou implementação de um método conhecido de modo a estimar a eficiência do método e a adequação do seu propósito. Estas adaptações incluem a mudança de técnicas ou até de diferentes equipamentos. Os parâmetros de desempenho do método, necessários avaliar, são:

- ✓ Especificidade e seletividade
- ✓ Gama de trabalho e linearidade da curva de calibração
- ✓ Sensibilidade
- ✓ Limites: decisão, deteção e quantificação
- ✓ Precisão: repetibilidade, intermédia e reprodutibilidade
- ✓ Exatidão
- ✓ Robustez
- ✓ Coerência

A primeira etapa para a validação de um método de ensaio é fazer a sua descrição e caracterização. No documento devem ser descritos os princípios teóricos da determinação, incluindo as grandezas que influenciam o resultado; campo de aplicação; equipamento, material e reagentes; processo de calibração (padrões, ensaios em branco, ensaios de recuperação e retas de calibração); procedimento; cálculo dos resultados. E ainda documentos associados e documentos de referência.

Devem ainda ser incluídos, quando aplicável, registos de amostragem, características do método utilizado, precauções de segurança e cálculo de incertezas.

A validação de um método de ensaio interno deve ser feita aquando da sua implementação e deve cumprir determinados requisitos, sendo estes, gama de trabalho, limiares analíticos, sensibilidade, precisão e exatidão.

1.3.1 Especificidade e Seletividade

Um método analítico é seletivo quando tem a capacidade de diferenciar e identificar um determinado analito numa mistura complexa, isto é, quando o valor obtido é apenas o da quantidade de um analito em particular presente na amostra e sem mistura de interferentes. Efetua-se um estudo dos casos mais prováveis utilizando uma amostra multicomponente. Uma forma de avaliar a especificidade e seletividade de um método é a realização de ensaios de recuperação. Um determinado método é específico sempre que a seletividade apresente valores próximos de 100 %.

1.3.2. Curva de Calibração

Em qualquer método quantitativo, existe uma gama de concentrações do analito na qual o método pode ser utilizado. Os primeiros valores da gama podem ser os valores dos limites de deteção e de quantificação e os últimos dependem do sistema de resposta do equipamento.

Para a escolha da gama de trabalho no caso de uma amostra específica, a concentração esperada deve situar-se no meio da faixa de trabalho, pois neste caso, o erro é menor de acordo com a regressão linear. Para uma concentração de analito desconhecida utiliza-se uma faixa de trabalho para amostras diversificadas. Os valores obtidos têm de estar dentro da faixa de trabalho e os valores medidos próximos ao limite inferior da faixa de trabalho e estes têm de ser diferentes dos brancos dos métodos.

A linearidade é o poder da metodologia analítica demonstrar que os resultados obtidos têm uma relação diretamente proporcional à concentração de analito na amostra, dentro do intervalo específico. Esta linearidade é obtida por padronização interna ou externa e formulada por uma equação de regressão linear que vai ser utilizada para o cálculo da concentração de analito na amostra real.

1.3.3 Sensibilidade

Sensibilidade é um parâmetro que demonstra a variação da resposta em função da concentração de analito. Pode ser expressa pela inclinação da curva de regressão linear de calibração, e é determinada simultaneamente aos testes de linearidade. Esta componente depende da natureza do analito e da técnica de deteção utilizada.

1.3.4 Limiares analíticos

Na curva de calibração os limites inferiores são as concentrações que indicam a capacidade de deteção e quantificação do método analítico a esse nível de concentração. Estes limiares podem ser obtidos através de réplicas do branco, da incerteza dos parâmetros da curva de calibração e da incerteza de dispersão dos valores em torno da curva de calibração.

A capacidade de deteção é a concentração mínima do analito que corresponde a um sinal dúbio, com probabilidade de cometer um erro do tipo α de 5% e um erro do tipo β de 50%. O limite de deteção define-se como a concentração que corresponde ao menor sinal instrumental que é distinto do valor obtido pelo branco para um nível de significância de 5%, assumindo um erro do tipo $\alpha=0.05$ e um erro do tipo $\beta=0.05$.

O limite de quantificação por sua vez corresponde à menor concentração medida a partir da qual é possível quantificar o analito, com uma dada precisão e exatidão. Este parâmetro pode ser calculado tendo em consideração a média aritmética do teor medido de uma série de brancos ou usando uma padrão vestígio ou branco fortificado ou ainda através da utilização de dados de uma calibração linear.

1.3.5 Precisão e exatidão

A precisão avalia a dispersão de resultados entre ensaios independentes, repetidos sobre uma mesma amostra, amostras semelhantes ou padrões, em condição definidas. Para minimizar os efeitos da matriz é mais realista estudar a precisão sobre amostras. Para avaliar esta dispersão existe a medida da repetibilidade e da reprodutibilidade. A repetibilidade é uma medida mínima da dispersão e a reprodutibilidade é uma medida máxima da dispersão dos resultados. Entre estas existe uma situação intermédia que se designa precisão intermédia que se designa por precisão intermédia ou variabilidade intralaboratorial.

A repetibilidade exprime a precisão de um método de ensaio efetuado em condições idênticas. O limite de repetibilidade é o valor abaixo do qual se deve situar a diferença absoluta entre dois ensaios obtidos nas condições acima referidas.

A repetibilidade pode também ser determinada através de um ensaio interlaboratorial ou a partir de ensaios efetuados no próprio laboratório. Efetuam-se uma série de medições ($n \geq 10$), em cada nível de concentrações sobre uma amostra ou padrões, em condições de repetibilidade. Numa

Controlo da Qualidade Alimentar: Validação de Métodos em Análise Química

série de amostras, este procedimento é repetido em vários níveis de concentração, cobrindo todo o domínio de aplicação do método. O cálculo deve ser efetuado separadamente para cada nível de concentração (i), eliminando valores anómalos. Para cada método de ensaio também deve ser calculada a variância associada à repetibilidade para cada nível de concentração (i), o limite de repetibilidade (r) para um nível de confiança de 95 % e o coeficiente de variação de repetibilidade (CVr).

A reprodutibilidade refere-se à precisão de um método efetuado em condições de ensaio diferentes, sobre uma mesma amostra, fazendo variar as condições de medição. O limite de reprodutibilidade (R) é o valor abaixo do qual se deve situar com uma probabilidade específica (95%), a diferença absoluta entre dois ensaios, obtidos nas condições referidas. Esta medida de precisão é obtida a partir de ensaios interlaboratoriais. Assim, é enviada uma série de amostras aos n laboratórios participantes, os quais realizam ensaios sobre a mesma amostra.

Por outro lado, a precisão intermédia refere-se à precisão avaliada sobre a mesma amostra, amostras idênticas ou padrões no mesmo método, no mesmo laboratório ou em laboratórios diferentes mas definindo exatamente quais as condições a variar. Esta é a medida mais representativa da variabilidade dos resultados num laboratório e como tal mais aconselhável. Para determinar a precisão intermédia de um método efetuam-se medições em replicado, duplicado ou em ensaio único, sobre a amostra nas condições definidas. Este procedimento pode abranger outras gamas de concentração. Dependendo do ensaio e do tipo de aplicação do estudo existem vários métodos para determinação e controlo desse parâmetro de qualidade, nomeadamente, cartas de controlo de amplitude e através da expressão do cálculo do desvio padrão da precisão intermédia.

Testes de Recuperação

A recuperação consiste em adicionar uma determinada concentração conhecida de um analito a uma amostra. A adição do analito pode ter uma concentração próxima do limite de deteção, próximo da concentração máxima permissível ou ainda próxima da intermédia da gama de linearidade do método. Pretende-se avaliar se o método identifica todo o analito adicionado.

A exatidão é determinada por métodos de avaliação direta.

1.3.5.1. Avaliação direta

Este tipo de avaliação tem como principal objetivo conhecer a exatidão do método de ensaio. A exatidão, quando aplicada a uma série de resultados de ensaio, implica a combinação de erros aleatórios e sistemáticos.

Controlo da Qualidade Alimentar: Validação de Métodos em Análise Química

Sempre que possível, em validação de métodos de ensaio devem ser utilizados Materiais de Referência Certificados (MRC), os quais constituem uma excelente ferramenta no controlo externo da qualidade de uma análise química. A qualidade dos resultados obtidos pode ser avaliada pelos seguintes parâmetros:

Erro relativo – componente de erros sistemáticos. O seu grau de exigência deve assentar em dados bibliográficos referentes ao método em questão ou, na ausência destes, em critérios de bom senso. Esta é uma forma de avaliar a exatidão de um método de ensaio.

Teste de hipótese (teste t) – componente de erros sistemáticos associados à metodologia praticada, através do teste de hipóteses.

Fator de desempenho (Z – score) – Forma de avaliar o desempenho do laboratório.

Erro normalizado – Forma de avaliar o desempenho, caso o laboratório tenha calculado a incerteza do resultado.

A periodicidade da análise de MRC deve ser estipulada em função da frequência de análises efetuadas, se se tratarem de análises de rotina ou de caráter pontual, do grau de conhecimento das amostras, da complexidade das técnicas e do grau de confiança exigido pelo resultado.

II. Procedimento Experimental

2. Parte experimental: Determinação de cloretos por potenciometria

O objetivo principal deste trabalho foi implementar e validar o método de determinação de cloretos por potenciometria numa gama de matrizes alimentares.

A amostra é dispersada em meio ácido, sob agitação, de modo a libertar os cloretos solúveis. A suspensão é titulada por potenciometria com AgNO_3 .

Numa primeira parte do procedimento há a determinação do potencial de viragem. Nesta fase, pipeta-se, com uma pipeta volumétrica, 25 ml de solução de cloreto de sódio a 0,0856 M para um gobelé de 400 ml, dilui-se com cerca de 50 ml de água e adiciona-se 50 ml de solução de ácido nítrico. Depois de inserido o eletrodo específico de prata dentro do gobelé e ligado o agitador magnético ajusta-se a velocidade de agitação de modo que a titulação decorra sob constante e forte agitação, mas sem que ocorram perdas por projeção. Titula-se então com a solução padrão de nitrato de prata ajustando o volume de solução adicionada com o incremento de diferença de potencial obtido. Utiliza-se um volume total de 50 ml de nitrato de prata de modo a obter a curva de titulação completa.

Numa segunda fase é necessário determinar o padrão de controlo e padronizar a solução padrão de nitrato de prata pipetando 25 ml de solução padrão de cloreto de sódio diluindo com cerca de 50 ml de água e adicionando 50 ml de solução de ácido nítrico (1+49). Depois da titulação com a solução padrão de nitrato de prata até atingir o potencial do ponto de equivalência determinado anteriormente. No ensaio em branco procede-se da mesma forma mas utilizando água desionizada em vez de solução de cloreto de sódio.

2.1 Aparelhos e utensílios

Material corrente de laboratório, e nomeadamente:

- Balança analítica, com aproximação de 0,0001 g;
- Eletrodo específico de prata;
- Agitador magnético
- Potenciómetro
- Buretas de 10, 25 e 50 ml.

2.2 Reagentes

Todos os reagentes devem ser de qualidade analítica e a água deve ser desionizada.

2.2.1 Solução de ácido nítrico diluída a (1+49):

Num balão volumétrico de 1000 ml, diluiu-se 20 ml de HNO_3 concentrado com água desionizada. Homogeneizou-se e aferiu-se o balão com água desionizada.

2.2.2 Solução padrão de nitrato de prata a 0,0856 M:

Num balão volumétrico de 1000 ml dissolveu-se, aproximadamente, 14,541 g de AgNO_3 em água desionizada. Homogeneizou-se e aferiu-se o balão com água desionizada. Titulou-se com solução padrão de nitrato de prata.

2.2.3 Solução de cloreto de sódio a 0,0856 M:

Pesou-se, 5,000 g de cloreto de sódio, previamente seco durante 2 horas a 110 °C, para um balão volumétrico de 1000 ml e dissolveu-se em água desionizada. Homogeneizou-se e aferiu-se o balão com água desionizada.

2.2.4 Cloreto de sódio Certipur (Merck 1.02406.0080) ou equivalente.

2.2.5 Solução padrão de cloreto de sódio:

Pesou-se, 5,000 g de cloreto de sódio, previamente seco durante 2 horas a 150 °C, para um balão volumétrico de 1000 ml e dissolveu-se em água desionizada. Homogeneizou-se e aferiu-se o balão com água desionizada. Esta solução pode ser guardada no frigorífico durante seis meses.

2.3 Preparação de amostras

Controlo da Qualidade Alimentar: Validação de Métodos em Análise Química**2.3.1 Amostras com teor de cloretos (expresso em NaCl) $\leq 2\%$**

Pesou-se, para um gobelé de 250 ml, cerca de 5 g de amostra. Adicionou-se água desionizada até cerca de 50 ml (utilizou-se água a ferver em amostras com gordura e difíceis de dispersar a frio). Adicionou-se 50 ml de solução diluída de HNO_3 (1+49). Titulou-se com solução padrão de nitrato de prata usando uma bureta de 10 ml no caso de amostras com teor de NaCl $\leq 1\%$.

2.3.2 Amostras com teor de cloretos (expresso em NaCl) $> 2\%$

Pesou-se, para um gobelé de 250 ml, cerca de 1 a 3 g de amostra. Adicionou-se água desionizada até cerca de 50 ml (utilizou-se água a ferver em amostras com gordura e difíceis de dispersar a frio). Adicionou-se 50 ml de solução diluída de HNO_3 (1+49). Titulou-se com solução padrão de nitrato de prata com uma bureta de capacidade adequada ao volume dispensado.

2.3.3 Amostras do tipo “caldos”

Em amostras do tipo “caldos” (exemplo: caldo de carne, sopas instantâneas) foi necessário fazer uma pré-diluição da amostra. Pesaram-se 10 g de amostra e transferiu-se para um balão volumétrico de 1000 ml (utilizar água a ferver em amostras difíceis de dispersar a frio). Pipetou-se 10 ml da solução, adicionou-se água desionizada até cerca de 50 ml. Adicionou-se 50 ml de solução diluída de HNO_3 (1+49). Titulou-se com solução padrão de nitrato de prata, com uma bureta de capacidade adequada ao volume dispensado.

2.4 Cálculos e expressão dos resultados

$$M = \frac{M_1}{1000} \times 10$$

Sendo:

M - Massa da toma, expressa em gramas.

M_1 – Massa da toma de “caldo”, expressa em gramas.

2.4.1 Cálculos

O teor de cloretos, expresso em gramas de NaCl por 100 gramas de amostra, é igual a:

$$\text{Teor de cloretos} = \frac{(V - V_B) \times T \times 0,05844 \times 100}{M}$$

Sendo:

M - é a massa da toma, expressa em gramas.

V - é o volume de solução padrão de AgNO_3 gasto na titulação da amostra, expresso em ml.

V_B - é o volume de solução padrão de AgNO_3 gasto na titulação do ensaio em branco, expresso em ml.

T - é o título da solução padrão de AgNO_3 gasto na titulação da amostra, expresso em N.

III. Resultados obtidos e discussão

3. Resultados obtidos e discussão

Neste capítulo são apresentados os resultados obtidos no decorrer do presente trabalho para a determinação de cloretos por potenciometria. Procedeu-se à análise das diferentes matrizes, sendo apresentados neste capítulo todos os resultados obtidos para a validação do método analítico apresentado no objetivo deste trabalho.

3.1 Determinação da exatidão

Tabela 1 – Estudo da exatidão (por matriz)

Data	Circuito	Matriz	X_{lab}	X_{ref}	nº lab. participantes	Desvio (s_R)	"bias"	Avaliação
2012-01	BIPEA	Feed for rabbit (g/100 g)	0,7	0,7	52	0,05	0,014	Aceitável
2012-02	BIPEA	Turkey feed (g/100 g)	0,6	0,5	45	0,05	0,056	Aceitável
2012-03	Inter 2000	Produto cárnico cocido (g/100 g)	1,7	1,7	34	0,14	0,012	Aceitável
2012-03	BIPEA	Feed for sow (g/100 g)	0,7	0,7	52	0,05	0,000	Aceitável
2012-05	BIPEA	Dog food (g/100 g)	1,4	1,4	54	0,07	0,014	Aceitável
2012-05	BIPEA	Green lentils (mg/100 g)	120,0	120,0	8	215	0,000	Aceitável
2012-06	BIPEA	Premix (g/100 g)	2,4	2,5	41	0,21	0,028	Aceitável
2012-09	BIPEA	Feed for piglet (g/100 g)	1,2	1,2	43	0,06	0,032	Aceitável
2012-09	BIPEA	Ready-made dish with meat (mg/100 g)	735,0	709,0	5	66	0,037	Aceitável
2012-10	BIPEA	Milk replacer for cows (g/100 g)	2,2	2,2	43	0,11	0,018	Aceitável
2012-10	BIPEA	Product rich in fibres (mg/100 g)	1272,0	1251,0	9	107	0,017	Aceitável
2012-11	BIPEA	Fish meal (g/100 g)	1,6	1,5	51	0,08	0,060	Aceitável
2012-12	BIPEA	Biscuit for breakfast (mg/100 g)	387,0	419,0	6	44	0,076	Aceitável
2013-01	BIPEA	Feed for rabbit (g/100 g)	0,7	0,7	50	0,05	0,014	Aceitável
2013-02	Inter 2000	Meat product (g/100 g)	1,8	1,8	32	0,14	0,000	Aceitável
2013-05	BIPEA	Cat food (g/100 g)	1,3	1,4	60	0,07	0,037	Aceitável
2013-05	BIPEA	Cat food (g/100 g)	1,4	1,4	60	0,07	0,037	Aceitável
2013-05	BIPEA	Lentil (mg/100 g)	930,0	939,0	11	83	0,010	Aceitável
2013-05	BIPEA	Lentil (mg/100 g)	930,0	939,0	11	83	0,010	Aceitável
2013-06	BIPEA	Premix (g/100 g)	53,0	50,9	39	2,79	0,042	Aceitável

Controlo da Qualidade Alimentar: Validação de Métodos em Análise Química

2013-06	BIPEA	Spread (mg/100 g)	131,0	179,0	9	26	0,268	Aceitável
2013-10	BIPEA	Milk replacer for cows (g/100 g)	2,2	2,2	50	0,11	0,019	Aceitável
2013-10	BIPEA	Liquid nutritive mix (mg/100 g)	141,0	144,0	6	24	0,021	Aceitável
2013-11	BIPEA	Milk shake (mg/100 g)	639,0	781,0	8	71	0,182	Aceitável
2013-11	BIPEA	Ready-made dish with meat (mg/100 g)	718,0	718,0	9	67	0,000	Aceitável
2013-11	BIPEA	Tomato juice (mg/kg)	3398,0	3532,0	12	353	0,038	Aceitável
2013-12	BIPEA	Soup (mg/100 g)	700,0	717,0	9	67	0,024	Aceitável
2014-01	BIPEA	Salmon (mg/100 g)	89,0	119,0	5	21	0,252	Aceitável
2014-01	BIPEA	Feed for rabbit (g/100 g)	0,8	0,8	55	0,05	0,024	Aceitável
2014-02	BIPEA	Baby milk (mg/100 g)	520,0	508,0	6	51	0,024	Aceitável
2014-02	BIPEA	Turkey feed (g/100 g)	0,5	0,5	54	0,05	0,040	Aceitável
2014-03	Inter 2000	Meat product (g/100 g)	2,1	2,1	30	0,131	0,014	Aceitável
2014-05	BIPEA	Dog food (g/100 g)	1,2	1,2	51	0,06	0,000	Aceitável
2014-06	BIPEA	Milk for breakfast (mg/100 g)	90,0	94,0	6	20	0,043	Aceitável
2014-06	BIPEA	Spread (mg/100 g)	110,0	124,0	8	22	0,113	Aceitável
2014-06	BIPEA	Premix (g/100 g)	0,0	0,1	25	0,07	0,500	Aceitável
2014-09	BIPEA	Red wine (mg/l)	13,0	26,0	14	9	0,500	Aceitável
2014-09	BIPEA	Feed for piglet (g/100 g)	0,7	0,7	59	0,05	0,028	Aceitável
2014-09	BIPEA	Dietary biscuit (mg/100 g)	590,0	584,0	23	57	0,010	Aceitável
2014-10	BIPEA	Milk replacer for cows (g/100 g)	2,1	2,1	53	0,11	0,005	Aceitável
2014-10	BIPEA	Liquid nutritive mix (mg/100 g)	140,0	141,0	5	23	0,007	Aceitável
2014-11	BIPEA	Fish meal (g/100 g)	3,5	3,4	47	0,17	0,030	Aceitável
2015-01	BIPEA	Feed for rabbit (g/100 g)	0,8	0,8	56	0,05	0,026	Aceitável
2015-01	BIPEA	Salmon (mg/100 g)	90,0	96,0	7	20	0,063	Aceitável
2015-02	BIPEA	Baby milk (mg/100 g)	980,0	972,0	5	86	0,008	Aceitável
2015-03	BIPEA	Growing-finishing pig meal (g/100 g)	0,7	0,7	55	0,05	0,000	Aceitável
2015-03	BIPEA	Dehydrated alfalfa (g/100 g)	0,8	0,9	50	0,05	0,023	Aceitável
2015-03	BIPEA	Clinical nutrition cream (mg/100 g)	190,0	208,0	6	28	0,087	Aceitável
2015-04	BIPEA	Mustard (mg/100 g)	6600,0	6455,0	7	497	0,022	Aceitável
2015-06	BIPEA	Premix (g/100 g)	0,6	0,6	47	0,08	0,089	Aceitável
2015-09	BIPEA	Feed for piglet (g/100 g)	1,1	1,1	59	0,06	0,009	Aceitável
2015-11	BIPEA	Cereals (mg/100 g)	290,0	308,0	7	36	0,058	Aceitável
2016-01	SILLIKER	Dry dog food (g/100 g)	0,6	0,6	21	0,03	0,016	Aceitável

Controlo da Qualidade Alimentar: Validação de Métodos em Análise Química

2016-02	BIPEA	Turkey feed (g/100 g)	0,3	0,3	58	0,05	0,000	Aceitável
2016-02	BIPEA	Turkey feed (g/100 g)	0,3	0,3	58	0,05	0,065	Aceitável
2016-04	LGC	Hard cheese (g/100 g)	1,7	1,9	59	0,08	0,086	Aceitável
2016-04	BIPEA	Mustard seeds (mg/100 g)	6300,0	6074,0	6	468	0,037	Aceitável
2016-05	BIPEA	Dog food (g/100 g)	1,00	0,97	56	0,05	0,031	Aceitável

Os valores obtidos para as matrizes analisadas encontram-se dentro dos limites estabelecidos desta forma demonstra-se que os valores de exatidão obtidos cumprem com os critérios estabelecidos para todas as matrizes analisadas.

3.2 Determinação da repetibilidade

Para demonstração da repetibilidade usaram-se os resultados dos 10 replicados obtidos da análise das matrizes, realizados no mesmo dia, no mesmo laboratório e no mesmo equipamento. Para avaliar a repetibilidade, determinou-se o limite de repetibilidade para cada amostra, que corresponde ao valor abaixo do qual se deve situar a diferença entre dois resultados. Na tabela 2 encontram-se representados os resultados obtidos para a avaliação da repetibilidade.

Grupo	Matriz	TESTE DA REPETIBILIDADE															Limite da repetibilidade
		Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Ensaio 4	Ensaio 5	Ensaio 6	Ensaio 7	Ensaio 8	Ensaio 9	Ensaio 10	Média	Variância	Desvio padrão	Desvio padrão relativo		
Cereais, leguminosas, pseudo-cereais e derivados	Bolacha com chocolate	0,7166	0,7174	0,7051	0,7095	0,7228	0,7200	0,7265	0,7244	0,7165	0,7101	0,7177	0,000048	0,006940	0,968097	0,019433	
	Tosta	1,7021	1,7147	1,7184	1,7194	1,7126	1,7158	1,7212	1,7186	1,7103	1,7171	1,7155	0,000031	0,005585	0,325646	0,015638	
	Bolacha água e sal	1,4985	1,5019	1,5017	1,5006	1,5006	1,5057	1,5092	1,5026	1,5002	1,5033	1,5022	0,000010	0,003089	0,205629	0,008650	
Alimentos confeccionados e pré-confeccionados	Batata frita (sem sal)	0,0939	0,0783	0,0667	0,0771	0,0777	0,0876	0,0873	0,0909	0,0901	0,0923	0,0844	0,000077	0,008801	10,452564	0,024643	
	Caldo	51,1454	51,6493	50,3896	50,6415	50,3896	50,3896	49,8857	51,1454	51,3974	50,8935	50,7930	0,299050	0,546855	1,076642	1,531194	
	Batata frita (com sal)	1,1956	1,2544	1,2259	1,1793	1,1321	1,1416	1,1176	1,2789	1,3748	1,3348	1,2240	0,007591	0,087128	7,121081	0,243957	
Produtos da pesca e derivados	Pescado panado	1,2070	1,2047	1,2091	1,2107	1,2061	1,1982	1,2068	1,2033	1,2229	1,2084	1,2080	0,000041	0,006376	0,527971	0,017854	
Frutos, algas, produtos hortícolas e derivados	Pickles	2,4489	2,4253	2,4196	2,4368	2,4151	2,4260	2,4096	2,4095	2,4537	2,4474	2,4290	0,000275	0,016571	0,682164	0,046399	
	Cogumelos em conserva	0,5197	0,5204	0,5165	0,5150	0,5082	0,4985	0,5084	0,5094	0,5084	0,5128	0,5110	0,000046	0,006762	1,324013	0,018934	
Alimentos para animais	Ração	0,9159	0,9237	0,9157	0,9193	0,9210	0,9230	0,9218	0,9163	0,9186	0,9200	0,9200	0,000008	0,002906	0,315993	0,008136	
Leite, produtos lácteos e derivados	Leite em pó	1,6888	1,6825	1,6843	1,6769	1,6879	1,6804	1,6928	1,6782	1,6874	1,6850	1,6800	0,000026	0,005144	0,305307	0,014402	
	Queijo flamengo	1,6373	1,6470	1,6047	1,5605	1,6484	1,5900	1,6381	1,6151	1,6378	1,6243	1,6200	0,000799	0,028259	1,744029	0,079125	
	Iogurte Líquido	0,1393	0,1405	0,1450	0,1379	0,1304	0,1314	0,1340	0,1398	0,1415	0,1453	0,1410	0,000006	0,002490	1,768384	0,006971	

Controlo da Qualidade Alimentar: Validação de Métodos em Análise Química

Carnes, produtos cárneos e derivados	Chouriço	3,3490	3,3591	3,3921	3,3536	3,3357	3,3945	3,3916	3,3888	3,3884	3,3699	3,372	0,000467	0,021610	0,640814	0,060508
Especiarias, condimentos e derivados	Sal	97,7395	97,1048	97,1048	97,7395	98,3742	98,3742	97,7395	98,3742	99,0088	98,3742	97,993	0,375955	0,613151	0,625707	1,716824
	Mostarda	4,3151	4,2953	4,2872	4,3003	4,2734	4,3072	4,3189	4,3066	4,3213	4,3088	4,303	0,000221	0,014870	0,345545	0,041637
Alimentos dietéticos, suplementos alimentares, produtos de alimentação especial	Alimentação Infantil	0,0792	0,0744	0,0751	0,0693	0,0851	0,0791	0,0694	0,0805	0,0855	0,0793	0,078	0,000032	0,005663	7,287037	0,015855

Os limites de repetibilidade calculados para as matrizes, antes do cálculo do valor do teste C, variam entre os valores desde os 0,006971 e os 1,716824. A homogeneidade das variâncias é avaliada através do teste C de *Cochran*, como se verifica na tabela 4.

Tabela 3 – Avaliação do teste C de *Cochran* para o estudo da repetibilidade.

Teste C de Cochran	Número de matrizes:	Maior variância:	0,376	Valor crítico tabelado - C_c (5 %):	0,1736	Avaliação:	Rejeitar a maior variância
	17	de Cochran (calculado):	0,549				

Após o cálculo do teste C de *Cochran* foi necessário calcular os limites de repetibilidade tendo em conta a variedade de matrizes com concentrações de cloretos bastante discrepantes. Neste sentido, calcularam-se os limites de repetibilidade para as seguintes gamas de cloretos: >50, >1, <1, e <0,1.

De forma a verificar a inexistência de resultados inconsistentes, procedeu-se à aplicação do teste de Grubbs, em que se fez uma avaliação do valor mínimo e do valor máximo obtido para cada amostra. A análise aos valores mínimos e máximos de cada amostra indica a inexistência de resultados inconsistentes, uma vez que para as gamas de cloretos estudadas o valor obtido de G é inferior ao valor crítico para um nível de significância de 1%.

Deste modo, na tabela 5 estão apresentados os resultados obtidos para os limites de repetibilidade das gamas de concentrações estudadas.

Controlo da Qualidade Alimentar: Validação de Métodos em Análise Química

Tabela 4 – Resultados obtidos para os limites de repetibilidade com base na gama de concentrações estudadas.

Composto	Gama de concentração (g/100 g)	Limite de repetibilidade relativo (%)	
		Valor calculado	Valor majorado/minorado
Cloreto	0,030 - 0,099	8,583381817	9
	0,10 - 0,99	3,063540878	3
	1,0 - 49,9	1,32356052	2
	50,0 - 100,0	1,35984914	2

Foram obtidos limites de repetibilidade que variam entre os 2% e os 9%.

3.3 Determinação da precisão intermédia

A precisão intermédia foi calculada usando os dados obtidos nos duplicados das matrizes analisadas. Foram efetuadas cinco medições em duplicado sendo que as análises foram realizadas em dias diferentes conseguindo-se assim avaliar o efeito do tempo nos resultados obtidos. O cálculo da precisão intermédia para as diferentes matrizes teve em conta tal como no cálculo da repetibilidade a gama de concentrações analisadas.

Tabela 5 – Resultados obtidos para a precisão intermédia da determinação do teor de cloretos para as amostras na gama de concentrações < 0,1.

Data	N.º Amostra	Matriz	Ensaio A	Ensaio B
24/05/2016		Batata frita (sem sal)	0,093158728	0,091234173
01/06/2016		Batata frita (sem sal)	0,089258237	0,091065827
08/06/2016		Batata frita (sem sal)	0,095412408	0,095529548
16/06/2016		Batata frita (sem sal)	0,077605335	0,068604557
27/06/2016		Batata frita (sem sal)	0,091400304	0,087931597
27/07/2016		Alimentação infantil	0,079976134	0,074382706
31/08/2016		Alimentação infantil	0,085510611	0,080385706

Controlo da Qualidade Alimentar: Validação de Métodos em Análise Química

01/09/2016		Alimentação infantil	0,075772468	0,080905472
05/09/2016		Alimentação infantil	0,066329835	0,060905514
07/09/2016		Alimentação infantil	0,059895995	0,059881712
24/07/2015	51912	Tomate	0,09	0,09
06/01/2015	375	Salmon (Bipea 4-4420-0112)	0,09	0,09
Desvio padrão da precisão intermédia			0,002864593	
Limite da precisão intermédia			9,8 %	

Tabela 6- Resultados obtidos para a precisão intermédia da determinação do teor de cloretos para as amostras na gama de concentrações <1.

Data	N.º Amostra	Matriz	Ensaio A	Ensaio B
19/04/2016		logurte líquido	0,152944599	0,15087526
20/04/2016		logurte líquido	0,141279153	0,143386263
21/04/2016		logurte líquido	0,141084592	0,1444697
27/04/2016		logurte líquido	0,147403374	0,153562003
28/04/2016		logurte líquido	0,156893087	0,154915073
20/04/2016		Bolacha com chocolate	0,765195884	0,773885143
27/04/2016		Bolacha com chocolate	0,698142039	0,681344054
28/04/2016		Bolacha com chocolate	0,71368233	0,729850484
10/05/2016		Bolacha com chocolate	0,728989343	0,715362908
11/05/2016		Bolacha com chocolate	0,657274744	0,658312807
01/06/2016		Cogumelos em conserva	0,511832241	0,513299614
08/06/2016		Cogumelos em conserva	0,504528042	0,509252858
02/01/2015	174	Batata Frita	0,50	0,51
05/09/2015	61606	Batata Frita	0,58	0,60
29/09/2015	67235	Batata Frita sem sal	0,31	0,31
05/09/2015	62018	Prato Cozinhado	0,91	0,92

Controlo da Qualidade Alimentar: Validação de Métodos em Análise Química

18/12/2015	91013	Aperitivos	0,61	0,63
24/07/2015	51912	Tomate	0,09	0,09
17/11/2015	81496	Tomato Juice (Bipea 12-1127-0003)	0,77	0,76
12/06/2015	39246	Leguminosas em conserva	0,62	0,61
18/03/2015	16942	Leguminosas em conserva	0,75	0,75
06/01/2015	375	Salmon (Bipea 4-4420-0112)	0,09	0,09
25/02/2015	11879	Soro	0,28	0,28
03/02/2015	6341	Baby Milk (Bipea 6-2420-0123)	0,98	0,99
02/03/2015	13118	Clinical Nutrition Cream (Bipea)	0,19	0,19
16/01/2015	2803	Ração	0,57	0,57
06/01/2015	362	Feed for rabbit (Bipea 10-1013-0021)	0,80	0,80
02/03/2015	13102	Dehydrated Alfalfa (Biepa 6-1413-0080)	0,84	0,85
02/03/2015	13104	Growing-Finishing Pig Meal (Bipea 2-3913-0083)	0,69	0,68
23/09/2015	65583	Ração	0,41	0,42
03/02/2015	6318	Turkey Feed (Bipea 5-3613-0162)	0,46	0,45
31/03/2015	20543	Nitrogenous corrector with ure (Bipea 9-2713-0073)	0,48	0,48
31/03/2015	20550	Nitrogenous corrector with ure (Bipea 9-2713-0073)	0,48	0,48
27/01/2015	4563	Bolacha	0,35	0,35
08/04/2015	21790	Bolacha	0,31	0,30
23/04/2015	25597	Pão de Forma	0,91	0,90
30/04/2015	27702	Padaria	0,80	0,80
25/05/2015	34611	Cereais	0,19	0,19
14/05/2015	30854	Bolacha	0,29	0,29
07/05/2015	28725	Cereais	0,76	0,77
18/06/2015	41030	Bolacha	0,26	0,27
11/06/2015	38768	Barras de Cereais	0,58	0,56
03/06/2015	37054	Bolacha	0,65	0,64
27/07/2015	51522	Bolacha	0,30	0,31
15/07/2015	47978	Cereais	0,83	0,85
07/07/2015	46035	Bolacha	0,53	0,53

Controlo da Qualidade Alimentar: Validação de Métodos em Análise Química

08/10/2015	69468	Bolacha	0,33	0,34
05/10/2015	68637	Bolacha	0,35	0,36
26/10/2015	75530	Bolacha	0,32	0,31
29/10/2015	76399	Cereals (Bipea 1-7020-0094)	0,28	0,29
27/11/2015	84947	Bolacha	0,37	0,35
05/11/2015	78351	Bolacha	0,70	0,70
Desvio padrão da precisão intermédia			0,006788240	
Limite da precisão intermédia			3,8 %	

Tabela 7 - Resultados obtidos para a precisão intermédia da determinação do teor de cloretos para as amostras na gama de concentrações >1.

Data	N.º Amostra	Matriz	Ensaio A	Ensaio B
10/05/2016		Mostarda	4,336163008	4,317382776
11/05/2016		Mostarda	4,294349697	4,280478369
12/05/2016		Mostarda	4,274936959	4,265428653
17/05/2016		Mostarda	4,308070588	4,307044993
19/05/2016		Mostarda	4,302666599	4,279161794
11/05/2016		Leite em pó	1,685210659	1,708848599
12/05/2016		Leite em pó	1,662981853	1,659064127
17/05/2016		Leite em pó	1,718131286	1,705353033
19/05/2016		Leite em pó	1,653634757	1,646242734
24/05/2016		Leite em pó	1,653478551	1,659683079
30/08/2016		Chouriço	3,397497541	3,417624457
31/08/2016		Chouriço	3,38698021	3,390888758
01/09/2016		Chouriço	3,435229909	3,387179496
05/09/2016		Chouriço	3,417992095	3,388635499
07/09/2016		Chouriço	3,2766024	3,273330181
01/09/2016		Queijo flamengo	1,649068533	1,666138573
05/09/2016		Queijo flamengo	1,629737215	1,58194211

Comentado [AC1]: Vais deixar a tabela a amarelo? Vais gastar muito dinheiro a imprimir e fica muito forte para quem lê

Controlo da Qualidade Alimentar: Validação de Métodos em Análise Química

07/09/2016		Queijo flamengo	1,442789775	1,42820249
08/09/2016		Queijo flamengo	1,505990645	1,486471757
12/09/2016		Queijo flamengo	1,357858454	1,376452572
06/09/2016		Pescado panado	1,241410781	1,219557776
07/09/2016		Pescado panado	1,177961498	1,194143427
08/09/2016		Pescado panado	1,205639993	1,18023758
12/09/2016		Pescado panado	1,213419135	1,211719692
13/09/2016		Pescado panado	1,245758496	1,242548094
01/09/2016		Bolacha de água e sal	1,494942614	1,50433662
05/09/2016		Bolacha de água e sal	1,482519216	1,480887905
07/09/2016		Bolacha de água e sal	1,457838421	1,453031576
08/09/2016		Bolacha de água e sal	1,451698813	1,454174245
14/09/2016		Bolacha de água e sal	1,505515841	1,502492215
07/09/2016		Pickles	2,37182022	2,400311427
08/09/2016		Pickles	2,437805505	2,436545306
12/09/2016		Pickles	2,473116264	2,465997091
13/09/2016		Pickles	2,391187987	2,443782913
14/09/2016		Pickles	2,410243372	2,392497027
04/03/2015	13595	Batata Frita	1,41	1,41
08/05/2015	29468	Batata Frita	1,02	1,01
15/06/2015	40192	Batata Frita	1,16	1,16
09/07/2015	46550	Batata Frita	1,89	1,89
09/10/2015	70360	Batata Frita	1,27	1,29
16/11/2015	80994	Batata Frita	1,28	1,28
05/11/2015	78434	Batata Frita	1,37	1,39
10/12/2015	88531	Batata Frita	1,94	1,93
10/07/2015	46922	Aperitivos	2,00	2,00
20/08/2015	58931	Farinha de Peixe	7,33	7,31
02/09/2015	61146	Feed for piglet (Bipea 9-1513-0074)	1,09	1,09
07/12/2015	88072	Farinha de Peixe	1,74	1,77
20/10/2015	72851	Farinha de Peixe	5,51	5,52

Controlo da Qualidade Alimentar: Validação de Métodos em Análise Química

26/05/2015	34947	Frutos Secos	2,4	2,4
31/03/2015	20557	Mustard (Bipea 2-6020-0094)	6,6	6,6
31/03/2015	20558	Mustard (Bipea 2-6020-0094)	6,5	6,5
08/06/2015	31195	Condimento	9,84	9,82
03/08/2015	55038	Surimi	1,33	1,35
10/04/2015	22661	Bolacha	3,22	3,20
10/04/2015	22661	Bolacha	3,22	3,20
06/08/2015	56104	Cereais	1,05	1,06
05/08/2015	55858	Pão de Forma	1,16	1,16
29/09/2015	67278	Bolacha	1,23	1,24
14/10/2015	71366	Cereais	1,87	1,87
23/12/2015	91756	Cereais	1,69	1,69
Desvio padrão da precisão intermédia			0,01251963	
Limite da precisão intermédia			1,4 %	

Tabela 8 – Resultados obtidos para a precisão intermédia da determinação do cloreto para as amostras na gama de concentrações >50.

Data	N.º Amostra	Matriz	Ensaio A	Ensaio B
16/06/2016		Sal	99,41795323	98,78065866
27/06/2016		Sal	99,41795323	99,92778889
29/06/2016		Sal	101,3298369	100,6925424
31/08/2016		Sal	100,7602748	99,48482826
01/09/2016		Sal	100,1225515	100,7602748
31/08/2016		Caldo	50,89345749	50,89345749
01/09/2016		Caldo	51,1454053	51,3973531
05/09/2016		Caldo	51,3973531	51,1454053
07/09/2016		Caldo	49,7299625	49,235137
08/09/2016		Caldo	50,224788	50,47220075
19/05/2015	32604	Preparado	50,21	50,21
Desvio padrão da precisão intermédia			0,401060903	

Controlo da Qualidade Alimentar: Validação de Métodos em Análise Química

Limite da precisão intermédia	1,5 %
-------------------------------	-------

É possível constatar através da análise de resultados do estudo da precisão intermédia que para as gamas de concentrações de cloretos estudada, a diferença entre os resultados de duas determinações efetuadas em condições de precisão intermédia, sobre a mesma amostra não excede 10% do valor médio.

Tabela 9 – Resumo de resultados de precisão intermédia para as gamas de concentrações analisadas.

Composto	Gama de concentração (g/100 g)	Limite de precisão intermédio relativo (%)
Cloretos	0,030 - 0,099	10
	0,10 - 0,99	4
	1,0 - 49,9	2
	50,0 - 100,0	2

3.4 Determinação da incerteza do método

A incerteza do método foi estimada para as diferentes gamas de concentração através dos resultados obtidos pelos certificados dos materiais de referência.

Tabela 10 - Apresentação dos resultados analíticos da incerteza do método da determinação de cloretos

Composto	Gama de concentração (%)	Incerteza relativa estimada (%)
Cloretos	0,030 - 0,099	16
	0,10 - 0,99	8
	1,0 - 100,0	6

O valor da incerteza estimada é igual a 16% para as amostras na gama de concentração <0,1, de 8% para as amostras na gama de concentração <1 e de 6% na gama de concentração entre 1 e 100%.

3.5 Linearidade e gama de trabalho

A linearidade é verificada diariamente no impresso IQ.77 Controlo dos declives.

Controlo da Qualidade Alimentar: Validação de Métodos em Análise Química

A gama de trabalho encontra-se compreendida entre 0,03 e 100,0 g/100g.

Tabela 11 – Gama de trabalho da determinação de cloretos por potenciometria.

Composto	Gama de trabalho (g/100 g)
Cloretos	0,03 - 100,0

3.6 Apresentação dos resultados do estudo

Tabela 12 – Apresentação dos resultados para a determinação de cloretos por potenciometria na gama de concentrações estudadas.

Arredondamento (c.d.)	Incerteza expandida relativa (%)	Gama de trabalho (%)		Média Inc. Exp. Relativa*Gama trabalho		Regra: máx. 2 alg. Signif.	Apresentação dos resultados	
0,001	16	0,030	0,099	0,0048	0,01584	0,016	0,030 ± 0,005	0,099 ± 0,016
0,001	8			0,008	0,07992		0,100 ± 0,008	0,999 ± 0,080
0,001	6	1,000	1,649	0,060	0,09894	0,099	1,000 ± 0,060	1,649 ± 0,099
0,1	6			0,10	0,99		1,65 ± 0,10	16,49 ± 0,99
	6	16,5	100,0	1,0	6,0	6,0	16,5 ± 1,0	100,0 ± 6,0

Tabela 13 -- Continuação da tabela anterior de apresentação de resultados

Composto	Gama de concentração (%)	Repetibilidade (%)	Precisão Intermédia (%)	Resultado médio (Rep./P.I.)	Desvio padrão (Rep./P.I.) (σ)	0,05*σ	0,5*σ
Cloretos	0,030 - 0,099	9	10	0,08188	0,002864593	0,0001432	0,0014323
	0,10 - 0,99	3	4	0,49748	0,00678824	0,0003394	0,0033941
	1,0 - 49,9	2	2	2,48348	0,012519625	0,000626	0,0062598
	50,0 - 100,0	2	2	73,07496	0,401060903	0,020053	0,2005305

Tabela 14 – Modo de apresentação dos resultados

Composto	Gama de concentração (%)	Número de casas decimais
Cloretos	0,030 - 1,649	3
	1,65 - 16,49	2
	16,5 - 100,0	1

IV. Considerações Finais

4. Considerações finais

A segurança alimentar é um conjunto de normas de produção, transporte e armazenamento de matérias-primas e produtos transformados que garantem a adequabilidade dos alimentos ao consumo. Estas regras são internacionais para que os alimentos possam satisfazer as necessidades comerciais e sanitárias, numa perspectiva de sustentabilidade. Um conceito importante na garantia de um alimento saudável é o dos "perigos", que podem ser de origem biológica, química ou física. O controlo da qualidade é pois uma necessidade permanente e contínua. Por outro lado, a informação da qualidade, composição, validade dos produtos tem que estar acessível ao consumidor, cada vez mais bem informado e consequentemente mais exigente. A *Silliker* responde a algumas destas preocupações, prestando serviços às empresas e portanto à comunidade. Neste trabalho procedeu-se à validação de um método de determinação de cloretos por potenciometria em géneros alimentícios, por forma a garantir a eficácia do método. As amostras foram sujeitas a um pré-tratamento tendo em consideração o seu teor de cloretos.

Os resultados da validação do método analítico para a determinação de cloretos mostram que o método analítico apresenta um limite de deteção e de quantificação de cloretos de 0,03 g/100 g. O estudo da repetibilidade foi efetuado tendo-se determinado o limite de repetibilidade, para a gama de concentrações estudada, que varia entre os 2% e os 9%. O limite de precisão intermédia também foi analisada apresentando valores entre os 2% e os 10%.

Os resultados do processo de validação do método analítico para a determinação de cloretos foram, em geral, satisfatórios para todos os parâmetros avaliados.

A realização deste estágio permitiu a aquisição e complementação de conhecimentos em diversas áreas, nomeadamente na análise química. A inclusão no mundo do trabalho foi uma experiência bastante enriquecedora, permitindo não só o contato com a realidade empresarial nesta área, mas também a aquisição de competências a nível pessoal e profissional.

V. Bibliografia

5. Bibliografia

- Barreira, 2009 – Barreira MJMM, Ocorrência da Patulina em Alimentos destinados a lactantes e crianças: Optimização e validação do método de análise por SPE – HPLC – UV. Tese de Mestrado. Faculdade de Farmácia da Universidade de Lisboa. 1–240, 2009
- Codex Alimentarius (Versão Portuguesa CAC/RCP 1-1969 Rev. 4 - 2003), <http://www.codexalimentarius.net>,
- Figueiredo, 2012 – Figueiredo, Tânia Margarida Pereira, Validação De Métodos Analíticos Determinação do Teor de Açúcar numa amostra de produto alimentar. Faculdade de Ciências e Tecnologias da Universidade de Coimbra, 1-116, 2012;
- GA17025 – Guia Aplicação da NP EN ISO/IEC 17025., OGC001, 2010, Instituto Português de Acreditação (IPAC);
- Guia ALQ – Guia Acreditação de Laboratórios Químicos, OGC002, 2011, Instituto Português de Acreditação (IPAC);
- MQ Silliker – Silliker Portugal S.A., Manual da Qualidade, Silliker Portugal S.A, 2014;
- Relacre 13 – Guia Validação de Métodos Internos de Ensaio em Análise Química, Guia 13, Associação de Laboratórios Acreditados de Portugal (RELACRE); ISBN 972-8574-02-9
- Relacre 7 – Guia Ensaio Interlaboratoriais em Química, Guia 7, Associação de Laboratórios Acreditados de Portugal (RELACRE), ISBN 972-96727-6-8;
- Relacre 3 – Guia Validação de Resultados em Laboratórios Químicos, Guia 3, Associação de Laboratórios Acreditados de Portugal (RELACRE) ISBN 972-96727-2-5
- PAFQ.355.1 – *Silliker*, Procedimento de Análise Físico-Química, Determinação de cloretos por potenciometria.

VI. Anexos

Anexo 1 – Apresentação da validação do método estudado

Determinação de cloretos por potenciometria		Código: VM.051
Validação de métodos		Revisão: 0
Emitido por:	Aprovado por:	Página 41/70
		Data de emissão: 2016-09-19

1. OBJETIVO

O objetivo deste documento é registar, documentar e evidenciar a validação do método analítico de determinação de cloretos por potenciometria, de acordo com a metodologia definida no procedimento PAFQ.355 Determinação de cloretos por potenciometria.

2. CAMPO DE APLICAÇÃO

A metodologia descrita neste procedimento aplica-se a amostras das seguintes matrizes:

- ✓ Alimentos confeccionados e pré-confeccionados.
- ✓ Alimentos dietéticos, suplementos alimentares, produtos de alimentação especial.
- ✓ Alimentos para animais.
- ✓ Carnes, produtos cárneos e derivados.
- ✓ Cereais, leguminosas, pseudo-cereais e derivados.
- ✓ Especiarias, condimentos e derivados.
- ✓ Frutos, algas, produtos hortícolas e derivados.
- ✓ Leite, produtos lácteos e derivados.
- ✓ Produtos da pesca e derivados.

Para validar este método foram realizados os ensaios necessários e pertinentes para cada um dos seguintes critérios:

- ✓ Precisão:
 - ✓ Repetibilidade.
 - ✓ Precisão intermédia.

Controlo da Qualidade Alimentar: Validação de Métodos em Análise Química

- ✓ Exatidão.
- ✓ Limite de quantificação.
- ✓ Gama de trabalho.
- ✓ Incerteza.

3. HISTÓRICO DAS REVISÕES

Versão	Data	Comentários
0	2016-09-19	Elaboração deste relatório.

4. TERMOS E DEFINIÇÕES

Termo	Definição (fonte)
Precisão	Concordância dos resultados obtidos no próprio laboratório, em ensaios espaçados no tempo e independentes, aplicando o mesmo método de análise à mesma amostra e nas condições normais de funcionamento do laboratório com respeito aos operadores e equipamento utilizado. Pressupõe-se que as características da amostra não variam durante o intervalo de tempo considerado (Guia RELACRE 3).
Repetibilidade	Refere-se à precisão obtida nas mesmas condições (mesmo laboratório, mesmo operador e equipamento, durante um curto intervalo de tempo (Guia RELACRE 3).
Precisão intermédia	Refere-se à precisão avaliada sobre a mesma amostra (ou amostras idênticas), utilizando o mesmo método e no mesmo laboratório, mas fazendo variar uma ou mais condições: <ul style="list-style-type: none"> ✓ Diferentes analistas. ✓ Diferentes equipamentos. ✓ Diferentes épocas. ✓ Com/sem verificação da calibração. ✓ Etc.
Exatidão	Concordância entre o valor obtido e o valor convencionalmente aceite como verdadeiro (Guia RELACRE 3).

Controlo da Qualidade Alimentar: Validação de Métodos em Análise Química

Termo	Definição (fonte)
Limite de quantificação (LQ)	Corresponde à menor concentração medida a partir da qual é possível a quantificação do analito, com uma determinada exatidão e precisão. Este limiar, após ter sido determinado, deve ser testado na prática para averiguar se a exatidão e a precisão conseguidas são satisfatórias (procedimento PCQ.34).
Gama de trabalho	Intervalo entre a maior e a menor concentrações de analito na amostra para o qual se demonstra que o método tem um nível de precisão, exatidão e linearidade adequados (procedimento PCQ.34).
Incerteza	Parâmetro associado ao resultado de uma medição que caracteriza a dispersão de valores que se pode razoavelmente atribuir à grandeza medida (Guia RELACRE 3).

5. RESPONSABILIDADES

Função	Responsabilidades
Responsável Técnico de Química (RTQ)	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Análise e tratamento dos dados gerados na validação do método, em conjunto com o RQ. ✓ Elaboração do presente relatório de validação do método. ✓ Acompanhamento de todas as tarefas executadas pelo PT. ✓ Aprovação do presente relatório de validação.
Responsável da Qualidade (RQ)	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Análise e tratamento dos dados gerados na validação do método, em conjunto com o RTQ. ✓ Acompanhamento do processo, com o RTQ. ✓ Emissão do presente relatório de validação.
Pessoal Técnico (PT)	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Preparação das amostras. ✓ Realização dos ensaios. ✓ Execução de todas as tarefas designadas pelo RTQ.

6. PROCEDIMENTO

6.1 Resumo da metodologia

A metodologia para a validação deste método (determinação de cloretos por potenciometria) consistiu na análise de:

- ✓ Amostras analisadas pelo laboratório de Físico-Química da SILLIKER Portugal.
- ✓ Cartas de controlo da plataforma ZETA SAFE.
- ✓ Participação em circuitos de comparação interlaboratorial.

Esta metodologia permite estimar todos os parâmetros estabelecidos no parágrafo 2. Campo de aplicação, deste relatório.

6.1.1 Princípio do método

A amostra é dispersada em meio ácido, sob agitação, de modo a libertar os cloretos solúveis. A suspensão é titulada por potenciometria com AgNO_3 .

6.2 Aparelhos e utensílios

Material corrente de laboratório, e nomeadamente:

- ✓ 6.2.1 Balança analítica, com aproximação de 0,0001g.
- ✓ 6.2.2 Eléctrodo específico de prata.
- ✓ 6.2.3 Agitador magnético.
- ✓ 6.2.6 Potenciómetro.
- ✓ 6.2.7 Buretas de 10, 25 e 50 ml.

6.3 Reagentes

Todos os reagentes devem ser de qualidade analítica e a água deve ser desionizada.

- ✓ 6.3.1 Solução de ácido nítrico diluída a (1+49).
- ✓ 6.3.2 Solução padrão de nitrato de prata a 0,0856 M.
- ✓ 6.3.3 Solução de cloreto de sódio a 0,0856 M.
- ✓ 6.3.4 Cloreto de sódio Certipur (Merck 1.02406.0080) ou equivalente.
- ✓ 6.3.5 Solução padrão de cloreto de sódio.

6.4 Matrizes

- ✓ Alimentos confeccionados e pré-confeccionados.
 - ✓ Batata frita (com sal).
 - ✓ Batata frita (sem sal).
 - ✓ Caldo.
- ✓ Alimentos dietéticos, suplementos alimentares, produtos de alimentação especial.
 - ✓ Alimento infantil.
- ✓ Alimentos para animais.
 - ✓ Ração.
- ✓ Carnes, produtos cárneos e derivados.
 - ✓ Chouriço.
- ✓ Cereais, leguminosas, pseudo-cereais e derivados.
 - ✓ Bolacha com chocolate.
 - ✓ Bolacha de água e sal.
 - ✓ Tosta.
- ✓ Especiarias, condimentos e derivados.
 - ✓ Mostarda.
 - ✓ Sal.
- ✓ Frutos, algas, produtos hortícolas e derivados.
 - ✓ Cogumelos em conserva.
 - ✓ Pickles.
- ✓ Leite, produtos lácteos e derivados.
 - ✓ Iogurte líquido.
 - ✓ Leite em pó.
 - ✓ Queijo flamengo.
- ✓ Produtos da pesca e derivados.
 - ✓ Pescado panado.

6.5 Precisão

6.5.1 Repetibilidade

Para demonstração da repetibilidade usaram-se os resultados dos 10 replicados obtidos da análise das matrizes identificadas no parágrafo 6.4 Matrizes, deste relatório, realizados no mesmo dia.

Controlo da Qualidade Alimentar: Validação de Métodos em Análise Química

6.5.1.1 Cloretos $\leq 0,099$ g/100 g

Tabela 1 – Estudo da repetibilidade.

Grupo	Matriz	TESTE DA REPETIBILIDADE														
		Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Ensaio 4	Ensaio 5	Ensaio 6	Ensaio 7	Ensaio 8	Ensaio 9	Ensaio 10	Média	Variância	Desvio padrão	Desvio padrão relativo	Limite da repetibilidade
Alimentos confeccionados e pré-confeccionados	Batata frita (sem sal)	0,0909	0,0883	0,0867	0,0871	0,0877	0,0876	0,0873	0,0909	0,0901	0,0923	0,089	0,000004	0,001996	2,245597	0,005590
Alimentos dietéticos	Alimento infantil	0,0792	0,0744	0,0751	0,0793	0,0714	0,0791	0,0794	0,0805	0,0755	0,0793	0,077	0,000009	0,003004	3,885390	0,008412
Teste C de Cochran	Número de matrizes:	Maior variância:			#####	Valor crítico tabelado - Cc (5 %):		0,8010	Avaliação:	CCalc<Ctab5%			Conclusão:	Valor aceite		
	2	C de Cochran (calculado):			#####											
Valor do limite da repetibilidade (média dos resultados da coluna "Limite da repetibilidade")																0,0070

Nota 1: Graus de liberdade = n-1, em que "n" é o número de ensaios (10).

Conclusão:

- ✓ Limite da repetibilidade = 0,0070 (valor calculado), majorado para 0,010 g/100 g.
- ✓ Limite da repetibilidade relativo = 8,5834 % (valor calculado), majorado para 9,0 %.

Tabela 2 – Teste de Grubbs.

Grupo	Matriz	TESTE DE GRUBBS							
		População	Valor crítico 1%	Valor mínimo	Gp Valor mínimo	Teste ao valor mínimo	Valor máximo	Gp Valor máximo	Teste ao valor máximo
Alimentos confeccionados e pré-confeccionados	Batata frita (sem sal)	10,000000	2,482000	0,086651	1,126134	Aceitável	0,092345	1,725876	Aceitável
Alimentos dietéticos	Alimento infantil	10,000000	2,482000	0,071402	1,971038	Aceitável	0,080532	1,067890	Aceitável

Controlo da Qualidade Alimentar: Validação de Métodos em Análise Química

6.5.1.2 $0,10 \leq \text{Cloretos} \leq 0,99 \text{ g/100 g}$

Tabela 3 – Estudo da repetibilidade.

Grupo	Matriz	TESTE DA REPETIBILIDADE														
		Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Ensaio 4	Ensaio 5	Ensaio 6	Ensaio 7	Ensaio 8	Ensaio 9	Ensaio 10	Média	Variância	Desvio padrão	Desvio padrão relativo	Limite da repetibilidade
Cereais, leguminosas, pseudo-cereais e derivados	Bolacha com chocolate	0,7166	0,7174	0,7051	0,7095	0,7228	0,7200	0,7265	0,7244	0,7165	0,7101	0,717	0,000048	0,006940	0,968097	0,019433
Frutos, algas, produtos hortícolas e derivados	Cogumelos em conserva	0,5197	0,5204	0,5165	0,5051	0,5082	0,4985	0,5084	0,5094	0,5084	0,5128	0,511	0,000046	0,006762	1,324013	0,018934
Alimentos para animais	Ração	0,9159	0,9237	0,9157	0,9193	0,9210	0,9230	0,9218	0,9163	0,9186	0,9200	0,920	0,000008	0,002906	0,315993	0,008136
Leite, produtos lácteos e derivados	Iogurte Líquido	0,1393	0,1405	0,1450	0,1379	0,1393	0,1404	0,1390	0,1398	0,1415	0,1453	0,141	0,000006	0,002490	1,768384	0,006971
Teste C de Cochran	Número de matrizes:	Maior variância:			0,00005	Valor crítico tabelado - Cc (5 %):		0,5017	Avaliação:		CCalc<Ctab5%			Conclusão:	Valor aceite	
	4	C de Cochran (calculado):			0,4444											
Valor do limite da repetibilidade (média dos resultados da coluna "Limite da repetibilidade")																0,0134

Nota 1: Graus de liberdade = n-1, em que "n" é o número de ensaios (10).

Conclusão:

- ✓ Limite da repetibilidade = 0,0134 (valor calculado), minorado para 0,01 g/100 g.
- ✓ Limite da repetibilidade relativo = 3,0635 % (valor calculado), minorado para 3,0 %.

Controlo da Qualidade Alimentar: Validação de Métodos em Análise Química

Nota 1: Graus de liberdade = $n-1$, em que “n” é o número de ensaios (10).

Matrizes eliminadas (após execução do teste de Cochran)											
Grupo	Matriz	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Ensaio 4	Ensaio 5	Ensaio 6	Ensaio 7	Ensaio 8	Ensaio 9	Ensaio 10
Alimentos confeccionados e pré-confeccionados	Batata frita (com sal)	1,1956	1,2544	1,2259	1,1793	1,1321	1,1416	1,1176	1,2789	1,3748	1,3348

Nota 2: Eliminou-se a maior variância porque $C_{calc} > C_{tab, 5\%}$.

Conclusão:

- ✓ Limite da repetibilidade = 0,0292 (valor calculado), majorado para 0,03 g/100 g.
- ✓ Limite da repetibilidade relativo = 1,3236 % (valor calculado), majorado para 2,0 %.

Tabela 6 – Teste de Grubbs.

Grupo	Matriz	TESTE DE GRUBBS							
		População	Valor crítico 1%	Valor mínimo	Gp Valor mínimo	Teste ao valor mínimo	Valor máximo	Gp Valor máximo	Teste ao valor máximo
Cereais, leguminosas, pseudo-cereais e derivados	Tosta	10,000000	2,482000	1,702109	2,309064	Aceitável	1,721150	1,100347	Aceitável
	Bolacha água e sal	10,000000	2,482000	1,498529	1,264845	Aceitável	1,509248	2,204767	Aceitável
Produtos da pesca e derivados	Pescado panado	10,000000	2,482000	1,198223	1,488717	Aceitável	1,222941	2,387738	Aceitável
Frutos, algas, produtos hortícolas e derivados Leite, produtos lácteos e derivados	Pickles	10,000000	2,482000	2,409452	1,191301	Aceitável	2,453721	1,480140	Aceitável
	Leite em pó	10,000000	2,482000	1,676938	1,515630	Aceitável	1,692765	1,561374	Aceitável
	Queijo flamengo	10,000000	2,482000	1,600044	1,586734	Aceitável	1,638102	1,124491	Aceitável
Carnes, produtos cárneos e derivados	Chouriço	10,000000	2,482000	3,349024	1,483782	Aceitável	3,394471	1,085412	Aceitável
Especiarias, condimentos e derivados	Mostarda	10,000000	2,482000	4,273401	2,019038	Aceitável	4,321298	1,201983	Aceitável

Controlo da Qualidade Alimentar: Validação de Métodos em Análise Química

6.5.1.4 Cloretos $\geq 50,0$ g/100 g

Tabela 7 – Estudo da repetibilidade.

Grupo	Matriz	TESTE DA REPETIBILIDADE														
		Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Ensaio 4	Ensaio 5	Ensaio 6	Ensaio 7	Ensaio 8	Ensaio 9	Ensaio 10	Média	Variância	Desvio padrão	Desvio padrão relativo	Limite da repetibilidade
Alimentos confeccionados e pré-confeccionados	Caldo	51,1454	51,0493	50,5896	50,6415	50,7896	50,8896	50,8857	51,1454	51,3974	50,8935	50,943	0,060847	0,246673	0,484216	0,690684
Especiarias, condimentos e derivados	Sal	97,7395	97,1048	97,1048	97,7395	98,0742	98,3742	97,7395	98,3742	98,0088	98,3742	97,863	0,227240	0,476697	0,487105	1,334751
Teste C de Cochran	Número de matrizes:	Maior variância:			0,227	Valor crítico tabelado - C _c (5 %):	0,8010	Avaliação:	CCalc<Ctab5%				Conclusão:	Valor aceite		
	2	C de Cochran (calculado):			0,789											
Valor do limite da repetibilidade (média dos resultados da coluna "Limite da repetibilidade")																1,0127

Nota 1: Graus de liberdade = n-1, em que "n" é o número de ensaios (10).

Conclusão:

- ✓ Limite da repetibilidade = 1,0127 (valor calculado), minorado para 1,00 g/100 g.
- ✓ Limite da repetibilidade relativo = 1,3598 % (valor calculado), majorado para 2,0 %.

Tabela 8 – Teste de Grubbs.

Grupo	Matriz	TESTE DE GRUBBS							
		População	Valor crítico 1%	Valor mínimo	Gp Valor mínimo	Teste ao valor mínimo	Valor máximo	Gp Valor máximo	Teste ao valor máximo
Alimentos confeccionados e pré-confeccionados	Caldo	10,000000	2,482000	50,589562	1,431518	Aceitável	51,397353	1,843231	Aceitável
Especiarias, condimentos e derivados	Sal	10,000000	2,482000	97,104810	1,591243	Aceitável	98,374154	1,071547	Aceitável

6.5.2 Precisão intermédia

Para o cálculo da precisão intermédia foram analisados 5 replicados das diferentes matrizes identificadas no parágrafo 6.4 Matrizes, deste relatório, para a determinação de cloretos por potenciometria.

Conclusão:

Composto	Gama de concentração (g/100 g)	Limite de precisão intermédio relativo (%)
Cloretos	0,030 - 0,099	10
	0,10 - 0,99	4
	1,0 - 49,9	2
	50,0 - 100,0	2

6.6 Exatidão

A exatidão é demonstrada com base nos resultados obtidos nos ensaios de comparação interlaboratorial.

Tabela 9 – Resultados obtidos nos ensaios de comparação interlaboratorial.

Data	Circuito	Matriz	X _{lab}	X _{ref}	nº lab. participantes	Desvio (s _R)	"bias"	Avaliação
2012-01	BIPEA	Feed for rabbit (g/100 g)	0,7	0,7	52	0,05	0,014	Aceitável
2012-02	BIPEA	Turkey feed (g/100 g)	0,6	0,5	45	0,05	0,056	Aceitável
2012-03	Inter 2000	Produto cárnico cocido (g/100 g)	1,7	1,7	34	0,14	0,012	Aceitável
2012-03	BIPEA	Feed for sow (g/100 g)	0,7	0,7	52	0,05	0,000	Aceitável
2012-05	BIPEA	Dog food (g/100 g)	1,4	1,4	54	0,07	0,014	Aceitável
2012-05	BIPEA	Green lentils (mg/100 g)	120,0	120,0	8	215	0,000	Aceitável
2012-06	BIPEA	Premix (g/100 g)	2,4	2,5	41	0,21	0,028	Aceitável
2012-09	BIPEA	Feed for piglet (g/100 g)	1,2	1,2	43	0,06	0,032	Aceitável
2012-09	BIPEA	Ready-made dish with meat (mg/100g)	735,0	709,0	5	66	0,037	Aceitável
2012-10	BIPEA	Milk replacer for cows (g/100 g)	2,2	2,2	43	0,11	0,018	Aceitável
2012-10	BIPEA	Product rich in fibres (mg/100 g)	1272,0	1251,0	9	107	0,017	Aceitável
2012-11	BIPEA	Fish meal (g/100 g)	1,6	1,5	51	0,08	0,060	Aceitável
2012-12	BIPEA	Biscuit for breakfast (mg/100 g)	387,0	419,0	6	44	0,076	Aceitável
2013-01	BIPEA	Feed for rabbit (g/100 g)	0,7	0,7	50	0,05	0,014	Aceitável
2013-02	Inter 2000	Meat product (g/100 g)	1,8	1,8	32	0,14	0,000	Aceitável

Controlo da Qualidade Alimentar: Validação de Métodos em Análise Química

Data	Circuito	Matriz	X_{lab}	X_{ref}	nº lab. participantes	Desvio (S_R)	"bias"	Avaliação
2013-05	BIPEA	Cat food (g/100 g)	1,3	1,4	60	0,07	0,037	Aceitável
2013-05	BIPEA	Cat food (g/100 g)	1,4	1,4	60	0,07	0,037	Aceitável
2013-05	BIPEA	Lentil (mg/100 g)	930,0	939,0	11	83	0,010	Aceitável
2013-05	BIPEA	Lentil (mg/100 g)	930,0	939,0	11	83	0,010	Aceitável
2013-06	BIPEA	Premix (g/100 g)	53,0	50,9	39	2,79	0,042	Aceitável
2013-06	BIPEA	Spread (mg/100 g)	131,0	179,0	9	26	0,268	Aceitável
2013-10	BIPEA	Milk replacer for cows (g/100 g)	2,2	2,2	50	0,11	0,019	Aceitável
2013-10	BIPEA	Liquid nutritive mix (mg/100 g)	141,0	144,0	6	24	0,021	Aceitável
2013-11	BIPEA	Milk shake (mg/100 g)	639,0	781,0	8	71	0,182	Aceitável
2013-11	BIPEA	Ready-made dish with meat (mg/100g)	718,0	718,0	9	67	0,000	Aceitável
2013-11	BIPEA	Tomato juice (mg/kg)	3398,0	3532,0	12	353	0,038	Aceitável
2013-12	BIPEA	Soup (mg/100 g)	700,0	717,0	9	67	0,024	Aceitável
2014-01	BIPEA	Salmon (mg/100 g)	89,0	119,0	5	21	0,252	Aceitável
2014-01	BIPEA	Feed for rabbit (g/100 g)	0,8	0,8	55	0,05	0,024	Aceitável
2014-02	BIPEA	Baby milk (mg/100 g)	520,0	508,0	6	51	0,024	Aceitável
2014-02	BIPEA	Turkey feed (g/100 g)	0,5	0,5	54	0,05	0,040	Aceitável
2014-03	Inter 2000	Meat product (g/100 g)	2,1	2,1	30	0,131	0,014	Aceitável
2014-05	BIPEA	Dog food (g/100 g)	1,2	1,2	51	0,06	0,000	Aceitável
2014-06	BIPEA	Milk for breakfast (mg/100 g)	90,0	94,0	6	20	0,043	Aceitável
2014-06	BIPEA	Spread (mg/100 g)	110,0	124,0	8	22	0,113	Aceitável
2014-06	BIPEA	Premix (g/100 g)	0,0	0,1	25	0,07	0,500	Aceitável
2014-09	BIPEA	Red wine (mg/l)	13,0	26,0	14	9	0,500	Aceitável
2014-09	BIPEA	Feed for piglet (g/100 g)	0,7	0,7	59	0,05	0,028	Aceitável
2014-09	BIPEA	Dietary biscuit (mg/100 g)	590,0	584,0	23	57	0,010	Aceitável
2014-10	BIPEA	Milk replacer for cows (g/100 g)	2,1	2,1	53	0,11	0,005	Aceitável
2014-10	BIPEA	Liquid nutritive mix (mg/100 g)	140,0	141,0	5	23	0,007	Aceitável
2014-11	BIPEA	Fish meal (g/100 g)	3,5	3,4	47	0,17	0,030	Aceitável
2015-01	BIPEA	Feed for rabbit (g/100 g)	0,8	0,8	56	0,05	0,026	Aceitável
2015-01	BIPEA	Salmon (mg/100 g)	90,0	96,0	7	20	0,063	Aceitável
2015-02	BIPEA	Baby milk (mg/100 g)	980,0	972,0	5	86	0,008	Aceitável
2015-03	BIPEA	Growing-finishing pig meal (g/100 g)	0,7	0,7	55	0,05	0,000	Aceitável
2015-03	BIPEA	Dehydrated alfalfa (g/100 g)	0,8	0,9	50	0,05	0,023	Aceitável
2015-03	BIPEA	Clinical nutrition cream (mg/100 g)	190,0	208,0	6	28	0,087	Aceitável
2015-04	BIPEA	Mustard (mg/100 g)	6600,0	6455,0	7	497	0,022	Aceitável

Controlo da Qualidade Alimentar: Validação de Métodos em Análise Química

Data	Circuito	Matriz	X_{lab}	X_{ref}	nº lab. participantes	Desvio (S_R)	"bias"	Avaliação
2015-06	BIPEA	Premix (g/100 g)	0,6	0,6	47	0,08	0,089	Aceitável
2015-09	BIPEA	Feed for piglet (g/100 g)	1,1	1,1	59	0,06	0,009	Aceitável
2015-11	BIPEA	Cereals (mg/100 g)	290,0	308,0	7	36	0,058	Aceitável
2016-01	SILLIKER	Dry dog food (g/100 g)	0,6	0,6	21	0,03	0,016	Aceitável
2016-02	BIPEA	Turkey feed (g/100 g)	0,3	0,3	58	0,05	0,000	Aceitável
2016-02	BIPEA	Turkey feed (g/100 g)	0,3	0,3	58	0,05	0,065	Aceitável
2016-04	LGC	Hard cheese (g/100 g)	1,7	1,9	59	0,08	0,086	Aceitável
2016-04	BIPEA	Mustard seeds (mg/100 g)	6300,0	6074,0	6	468	0,037	Aceitável
2016-05	BIPEA	Dog food (g/100 g)	1,00	0,97	56	0,05	0,031	Aceitável

Conclusão: Com base nos ensaios realizados e nos resultados obtidos, demonstra-se que os valores de exatidão obtidos cumprem com os critérios estabelecidos para as matrizes analisadas.

6.7 Limite de quantificação

O limite de quantificação é de 0,030 g/100 g.

6.7.1 Validação experimental do limite de quantificação

Validado experimentalmente.

6.8 Gama de trabalho

De 0,030 g/100 g a 100,0 g/100 g.

6.9 Incerteza

Composto	Gama de concentração (%)	Incerteza relativa estimada (%)
Cloretos	0,030 - 0,099	16
	0,10 - 0,99	8
	1,0 - 100,0	6

Controlo da Qualidade Alimentar: Validação de Métodos em Análise Química

6.10 Resultados

6.10.1 Apresentação dos resultados

Composto	Gama de concentração (%)	Número de casas decimais
Cloretos	0,030 - 1,649	3
	1,65 - 16,49	2
	16,5 - 100,0	1

6.11 Conclusões

Critérios	Resultados obtidos			
Repetibilidade e	Composto	Gama de concentração (g/100 g)	Limite de repetibilidade relativo (%)	
			Valor calculado	Valor majorado/ minorado
	Cloretos	0,030 - 0,099	8,5834	9
		0,10 - 0,99	3,0635	3
		1,0 - 49,9	1,3236	2
		50,0 - 100,0	1,3598	2
Precisão intermédia	Composto	Gama de concentração (g/100 g)	Limite de precisão intermédio relativo (%)	
	Cloretos	0,030 - 0,099	10	
		0,10 - 0,99	4	
		1,0 - 49,9	2	
		50,0 - 100,0	2	
	Exatidão	✓ Com base nos ensaios realizados e nos resultados obtidos, demonstra-se que os valores de exatidão obtidos cumprem com os critérios estabelecidos para as matrizes analisadas.		
Limite de quantificação	✓ O limite de quantificação é de 0,030 g/100 g.			
Gama de trabalho	✓ De 0,030 g/100 g a 100,0 g/100 g.			

Controlo da Qualidade Alimentar: Validação de Métodos em Análise Química

Critérios	Resultados obtidos		
Incerteza	Composto	Gama de concentração (%)	Incerteza relativa estimada (%)
	Cloretos	0,030 - 0,099	16
		0,10 - 0,99	8
		1,0 - 100,0	6
Resultados	Composto	Gama de concentração (%)	Número de casas decimais
	Cloretos	0,030 - 1,649	3
		1,65 - 16,49	2
		16,5 - 100,0	1

7. DOCUMENTOS ASSOCIADOS

7.1 Impressos

<i>Impresso necessário</i>	<i>Quem entrega os registos ao responsável pelo arquivo</i>	<i>Responsável pelo arquivo</i>
IQ.22 Estudo da repetibilidade.	RQ	RQ
IQ.29 Cálculo da precisão intermédia (ensaio com duplicados).	RQ	RQ
IQ.292 Estimativa da incerteza.	RQ	RQ

7.2 Procedimentos

<i>Código</i>	<i>Designação do procedimento</i>
PAFQ.355	Determinação cloretos por potenciometria.
PCQ.34	Validação de métodos de análise química.
PGL.32	Segurança no laboratório

8. SEGURANÇA

- ✓ Cumprir com as regras gerais de segurança do laboratório.
- ✓ Cumprir com o definido no procedimento PGL.32 Segurança no laboratório.

9. DOCUMENTOS DE REFERÊNCIA

9.1 Referência à ISO 9001 Sistemas de gestão da qualidade. Requisitos.

Capítulo	Referências
7.1	Planeamento da realização do produto
7.3	Conceção e desenvolvimento

9.2 Referência a outras normas ISO relevantes

Documento	Título
NP EN ISO/IEC 17025	Requisitos gerais de competência para laboratórios de ensaio e calibração (versão em vigor).

9.3 Referência a outros documentos relevantes

Documento	Título
Guia RELACRE 3	Validação de resultados em laboratórios químicos (Janeiro 1996)

10. FLUXOGRAMA

Não aplicável.

11. ANEXOS

Não aplicável.